

**AKTIVITAS SENYAWA ALKALOID SA2014 DARI SPONS LAUT *Cinachyrella anomala* TERHADAP PROTEIN p53 KANKER PAYUDARA T47D
MENGUNAKAN *DOCKING* MOLEKULER**

FITRI LIANINGSIH -1512100011

Dosen Pembimbing

Dr. Awik Puji Dyah Nurhayati, M.Si

Dosen penguji

Aunurohim, DEA

Dr. rer.nat. Edwin setiawan, M.Sc

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER SURABAYA

Contents

BAB 1 PENDAHULUAN

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

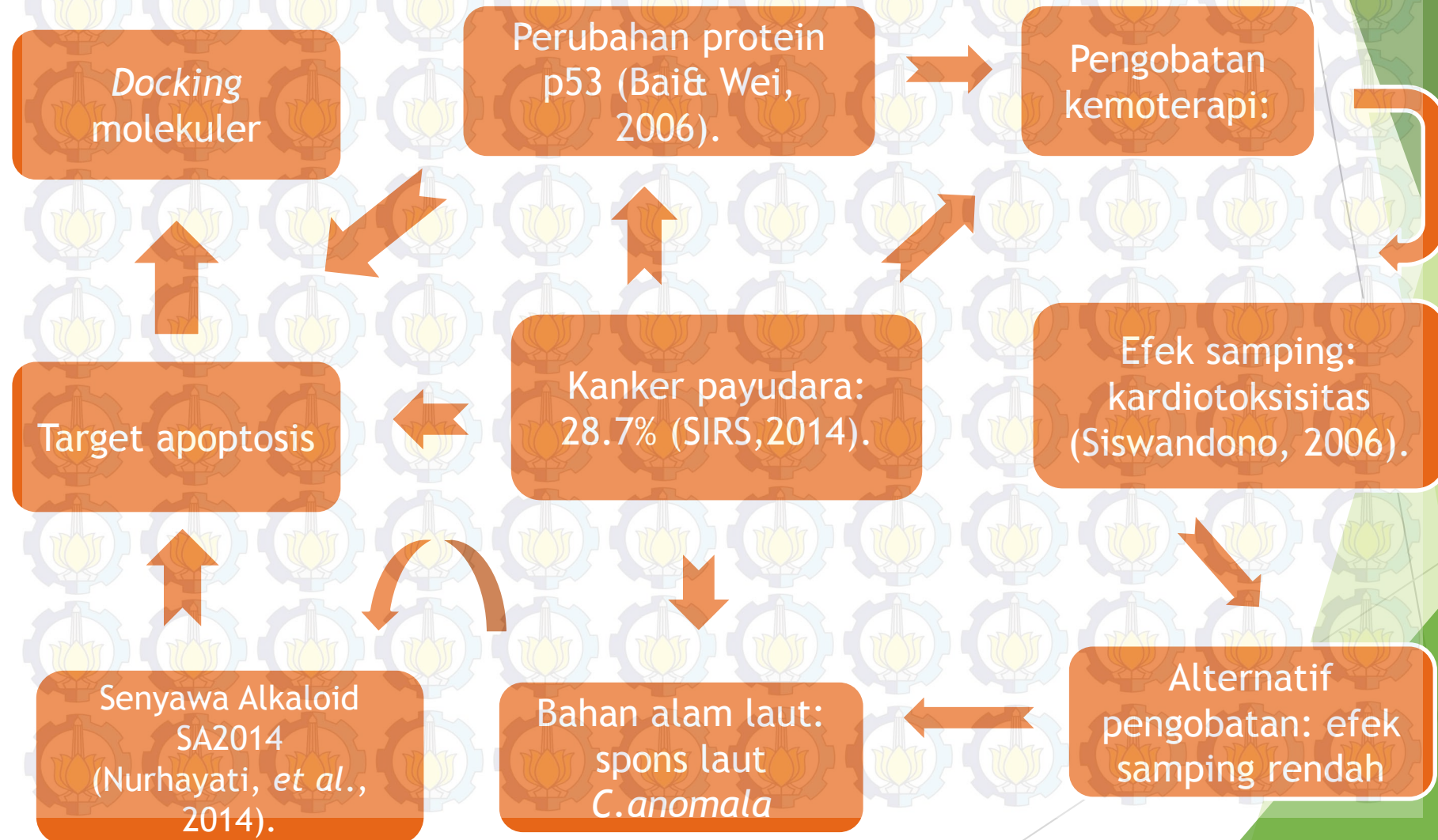
BAB III METODOLOGI

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang



1.2 Rumusan Permasalahan

- Bagaimana efektivitas senyawa alkaloid SA2014 dari spons laut *C.anomala* terhadap protein p53 kanker payudara T47D menggunakan metode *docking* molekuler.

1.3 Batasan Masalah

- Skor *docking* molekuler senyawa alkaloid SA2014 dari spons laut *C.anomala* terhadap protein p53 dibandingkan dengan skor *docking* doxorubicin terhadap protein p53 pada kanker payudara T47D dan jarak ikatan senyawa alkaloid SA 2014 terhadap p53

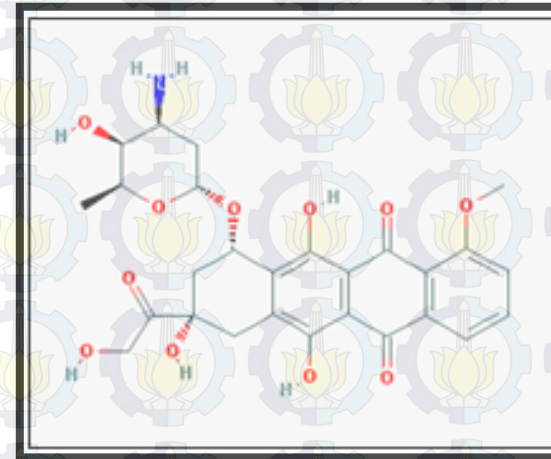
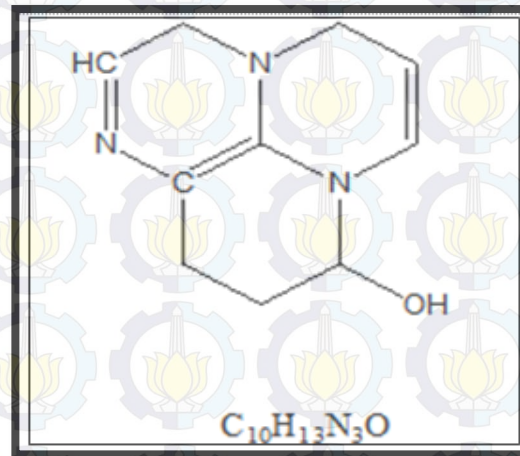
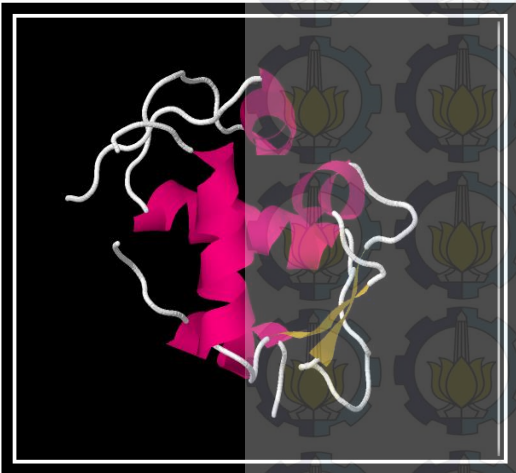
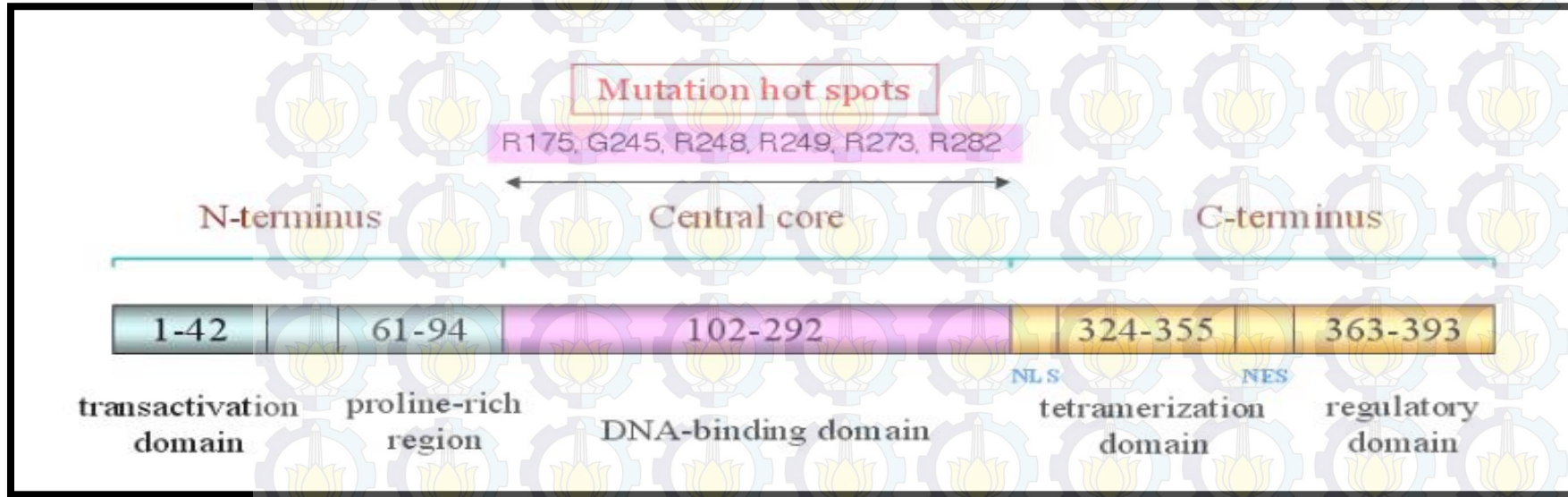
1.4 Tujuan

- Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas senyawa alkaloid SA2014 dari spons laut *C. anomala* terhadap protein p53 kanker payudara T47D menggunakan metode *docking* molekuler.

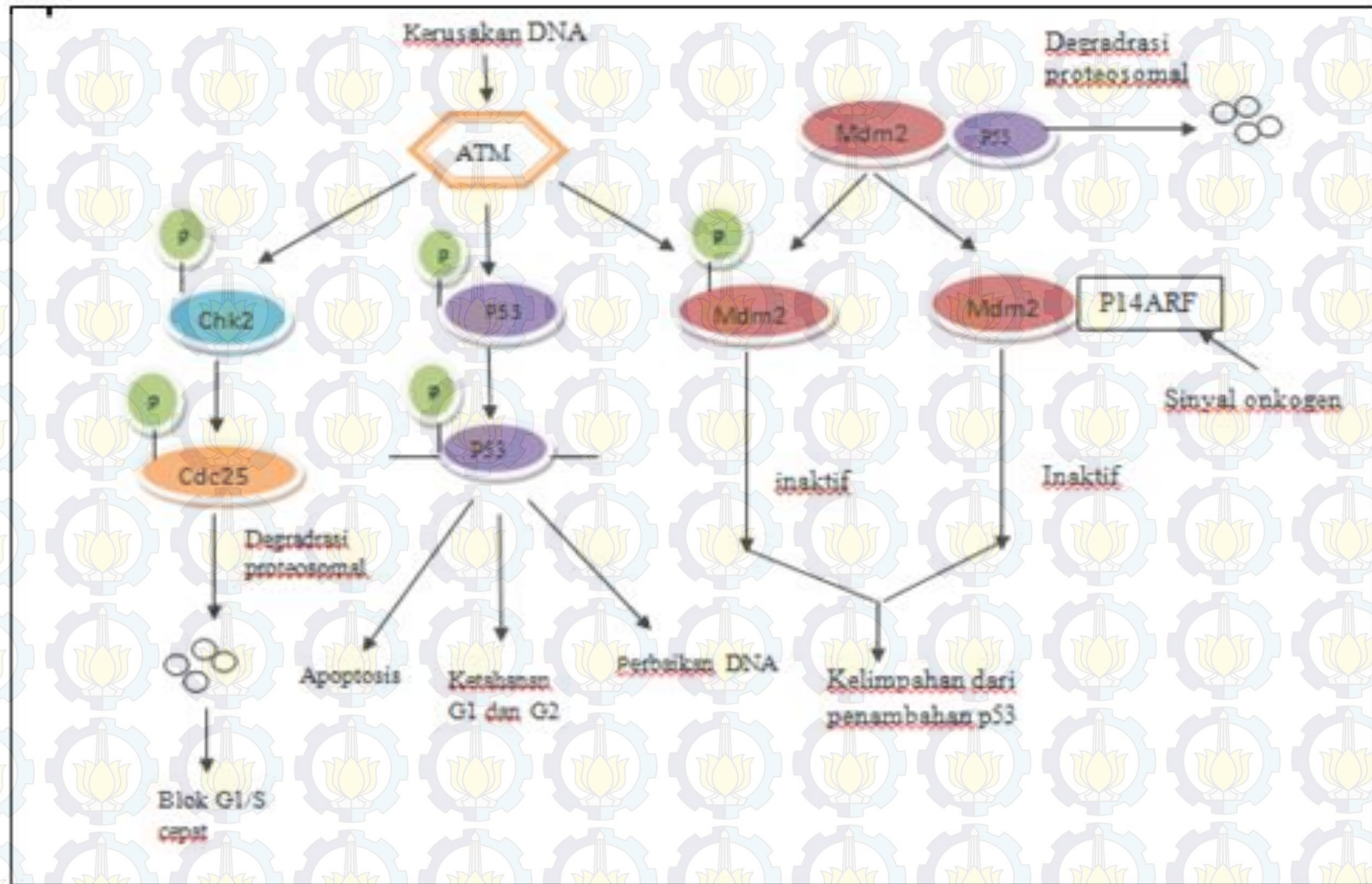
1.5 Manfaat

- Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai potensi bahan alam laut di Indonesia untuk desain obat yang efektif mengobati kanker payudara.

► BAB II TINJAUAN PUSTAKA



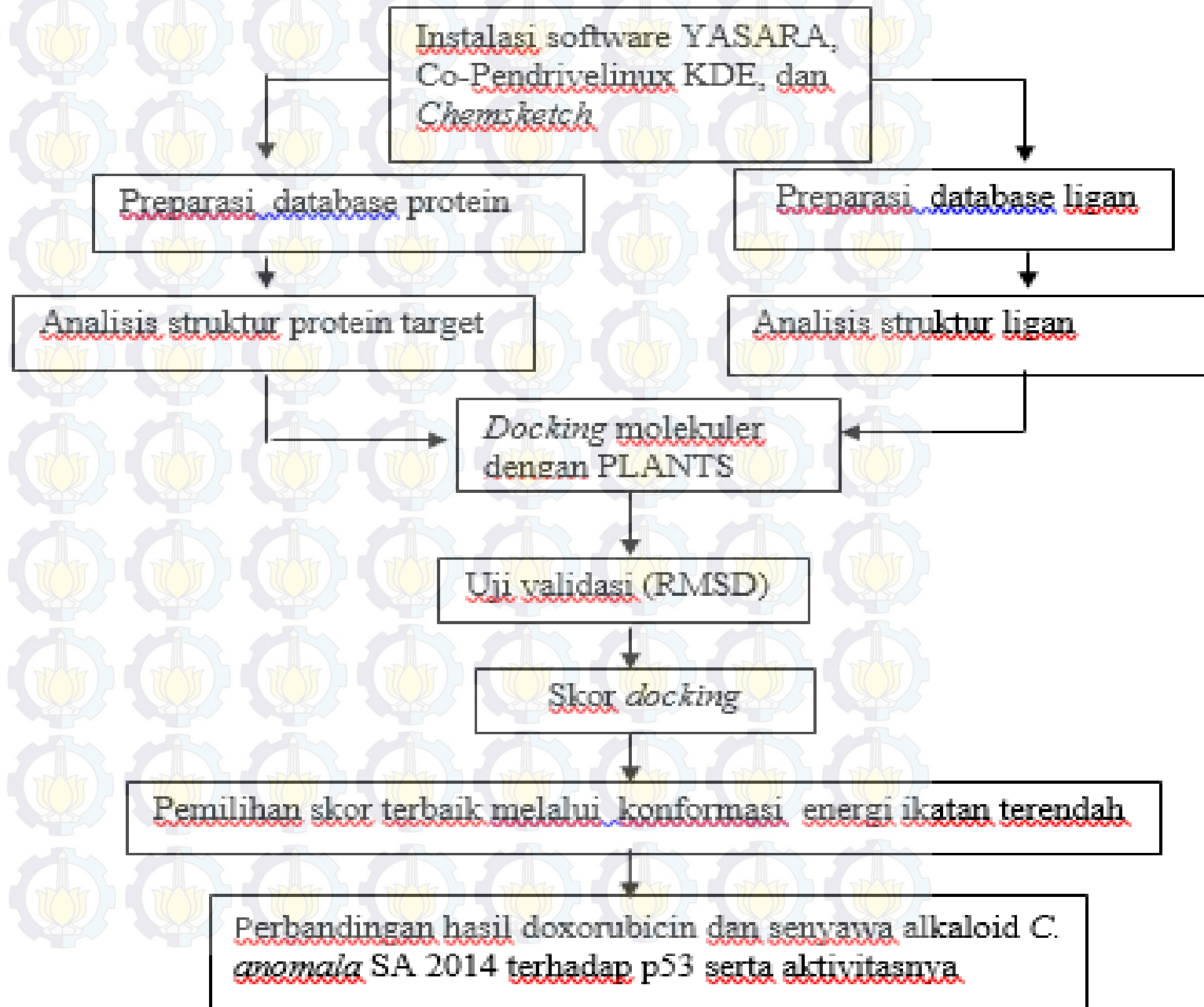
Domain fungsional p53 (atas), struktur p53 kompleks dengan DNA binding domain (a), struktur SA2014 (b) dan struktur doxorubicin (c)



Jalur pada p53 dihubungkan dengan Mdm2 ketika terjadi kerusakan DNA

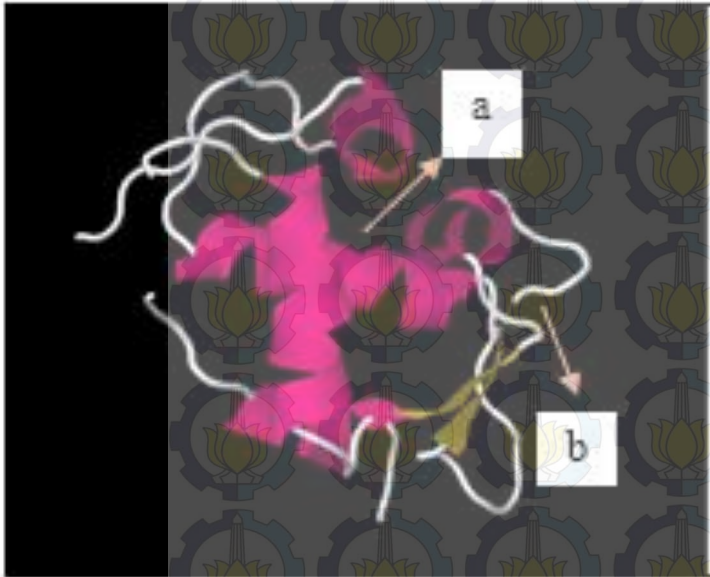
BAB III

METODOLOGI



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

► 4.1 Struktur protein target



Struktur Tiga Dimensi MDM2 Berikatan dengan Domain Transaktivasi pada Protein p53. Keterangan: a. MDM2; b. Domain Transaktivasi p53.

► p53 merupakan protein supresor tumor sebagai master regulator pada jalur sinyal yang bervariasi.

► Aktivitas protein p53 sebagai supresor tumor akan terganggu jika terjadi mutasi baik pada p53 maupun Murine double minute 2 (MDM2).

► MDM2 merupakan regulator negatif yang mengatur aktivitas p53 dengan menghambat secara langsung aktivitas transkripsi p53.

► Aktivitas protein p53 dapat distabilkan melalui penghambatan interaksi antara p53 dan MDM2 (Leao, *et al.*, 2013).

4.2 Hasil *Docking* Ligan dan Protein Target

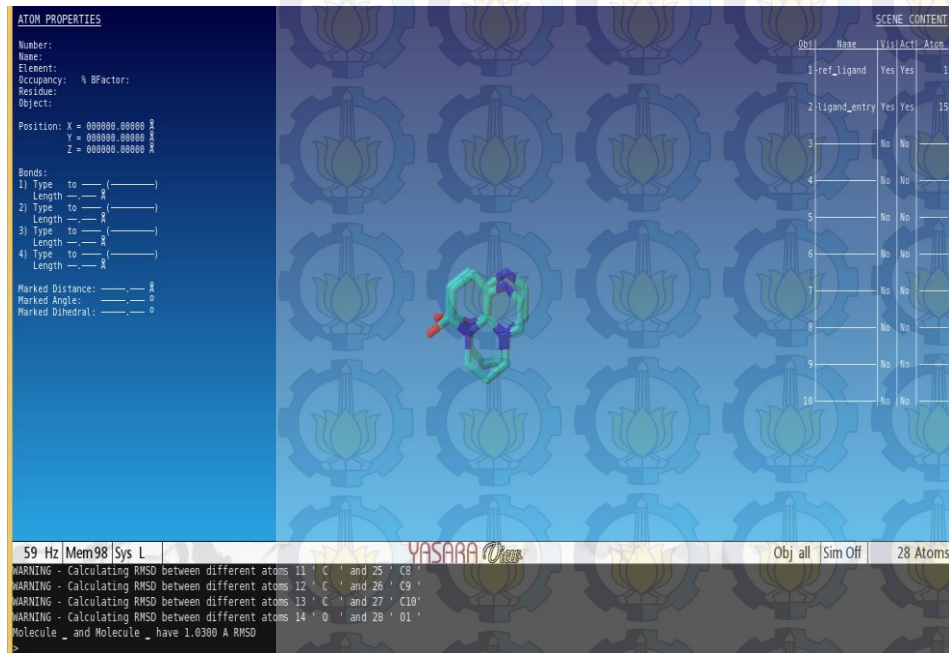
► Tabel 4.1 Hasil dari skor *docking* Ligan dan Protein p53

Konformasi	SA2014	Doxorubicin
entry_00001_conf_01	-51.8614	-49.9983
entry_00002_conf_01	-51.8600	-49.1915
entry_00003_conf_01	-51.7016	-49.5867
entry_00004_conf_01	-51.6456	-47.5193
entry_00005_conf_01	-50.7724	-49.1704
entry_00006_conf_01	-52.0728	-49.9439
entry_00007_conf_01	-52.0493	-50.4389
entry_00008_conf_01	-52.0076	-50.6343
entry_00009_conf_01	-51.2384	-49.9637
entry_00010_conf_01	-51.2131	-50.1500

► Tabel 4.2 Hasil Seleksi *docking* Ligan dan Protein p53

Ligan	Skor docking terhadap p53
SA2014	-52.0728
Doxorubicin	-50.6343

4.3 Validasi Hasil Docking Ligan dan Protein Target

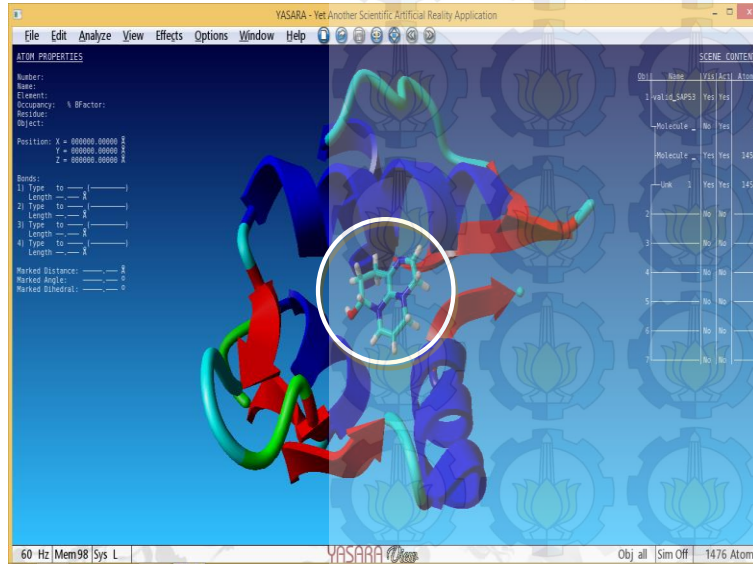


► Hasil *Root Mean Square Deviation* (RMSD) berat atom senyawa hasil *docking* dengan referensinya adalah 1.0300 Angstrom.

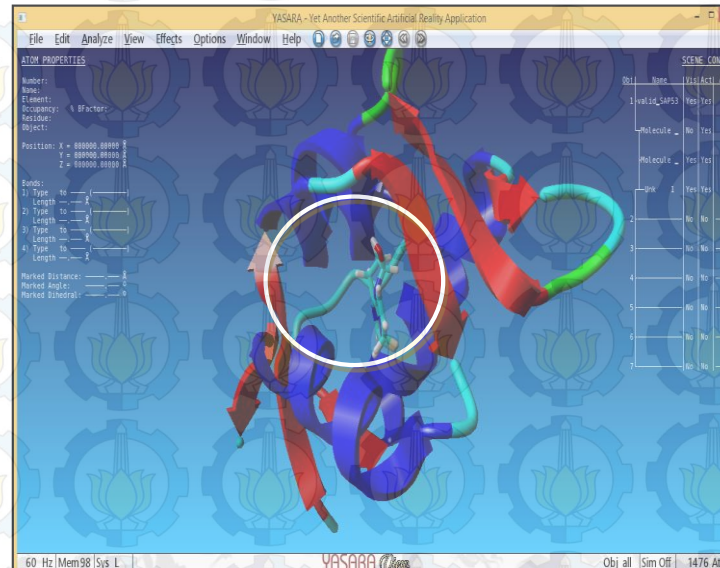
► Gambar 4.2 Hasil RMSD senyawa hasil *docking* dengan referensinya

4.4 Visualisasi Hasil *Docking* Menggunakan YASARA

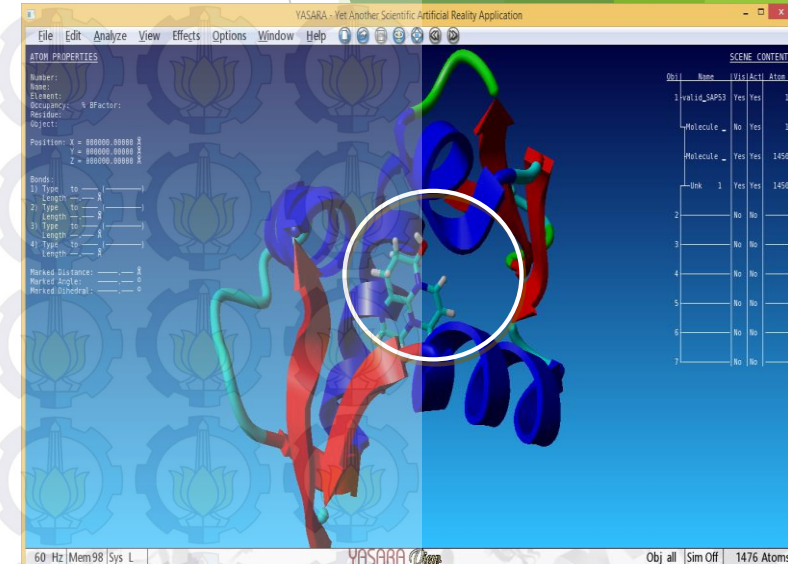
4.4.1 Visualisasi Hasil *Docking* SA2014 dan Protein p53



Gambar 4.3A

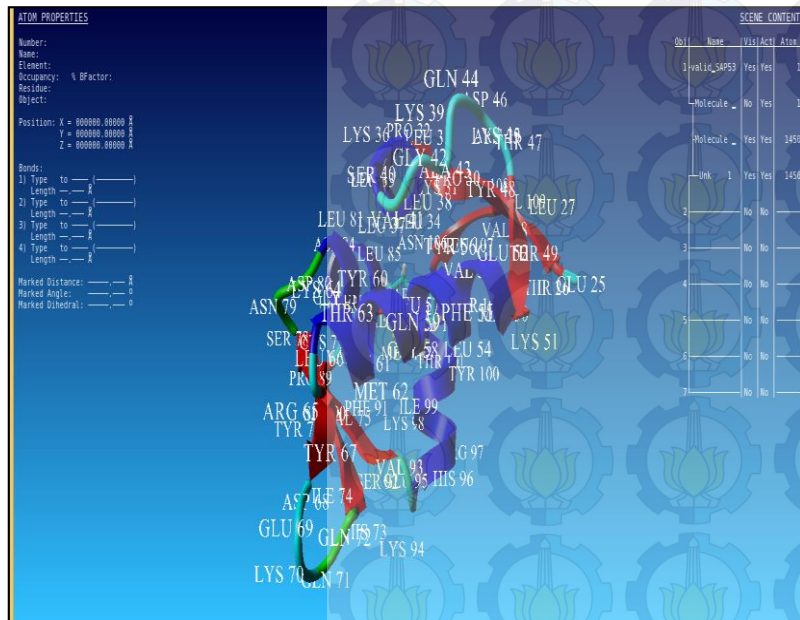


Gambar 4.3B



Gambar 4.3C

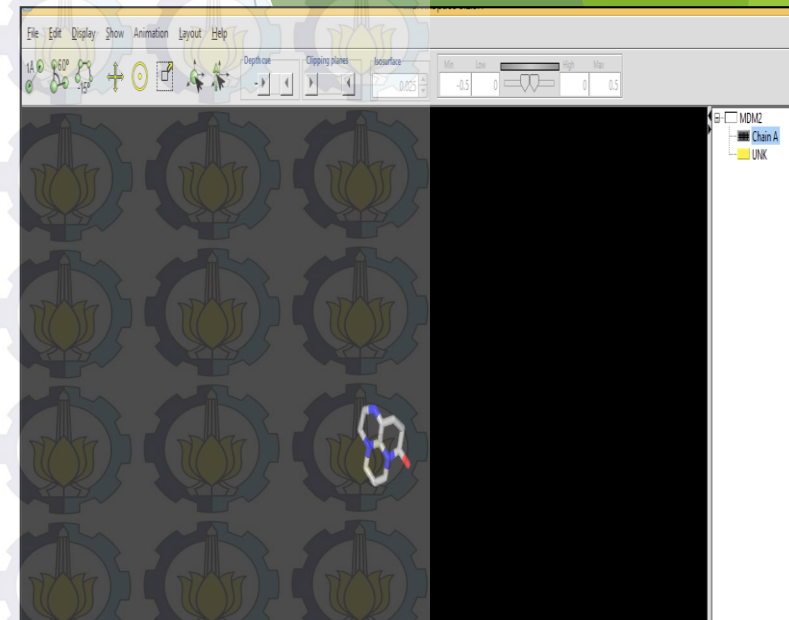
Gambar 4.3A) Hasil Visualisasi *Docking* SA2014 dan Protein p53 menggunakan YASARA Tampak Depan B) Tampak Samping C) Tampak Belakang



Gambar 4.3D



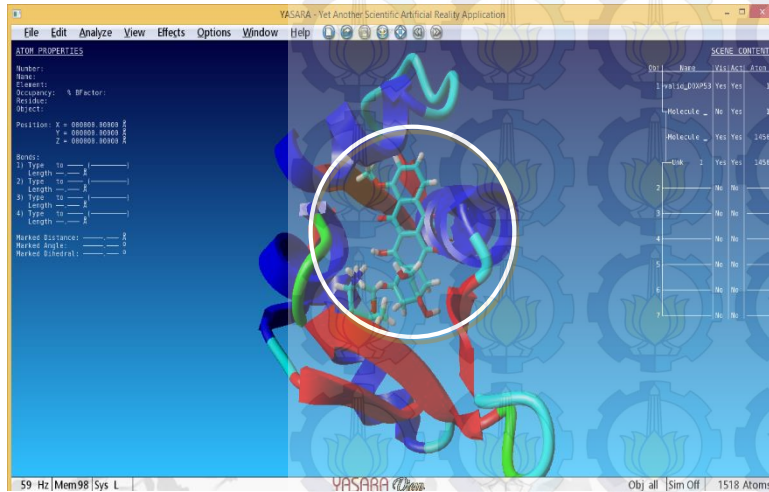
Gambar 4.3E



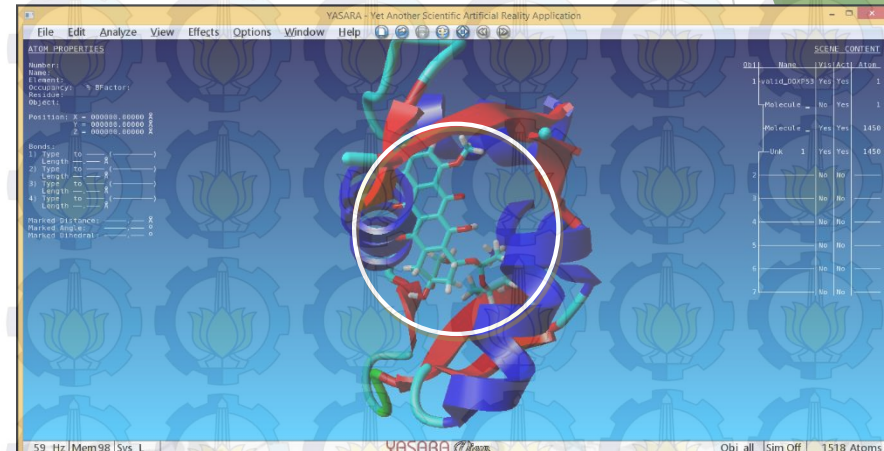
Gambar 4.3F

- Gambar 4.3D. Hasil Visualisasi Asam Amino pada SA2014 dan Protein p53 menggunakan YASARA
- Gambar 4.3E. Hasil Visualisasi Asam Amino pada SA2014 dan Protein p53 menggunakan YASARA Jika Diperbesar
- Gambar 4.3F. Visualisasi Struktur Ligan SA2014 Menggunakan Marvin Space

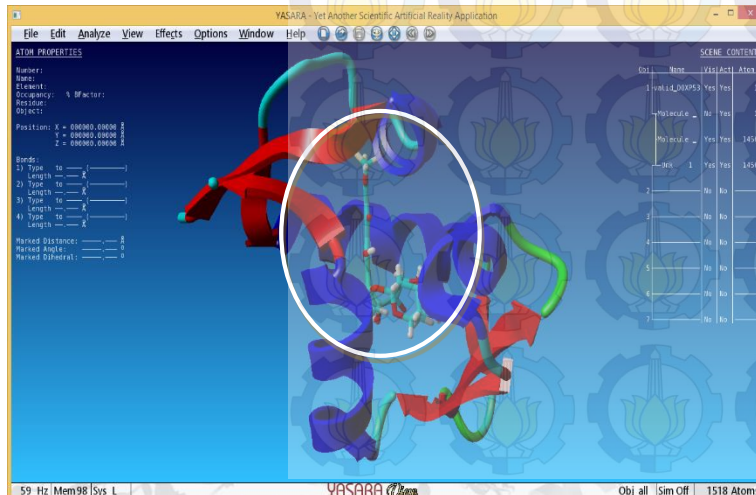
4.4.2 Visualisasi Hasil *Docking* Doxorubicin dan Protein p53



Gambar
4.4A

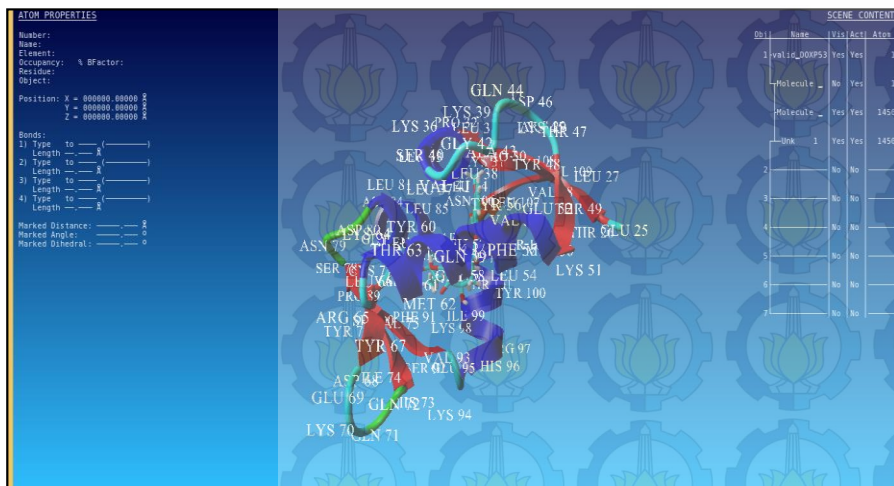


Gambar 4.4C

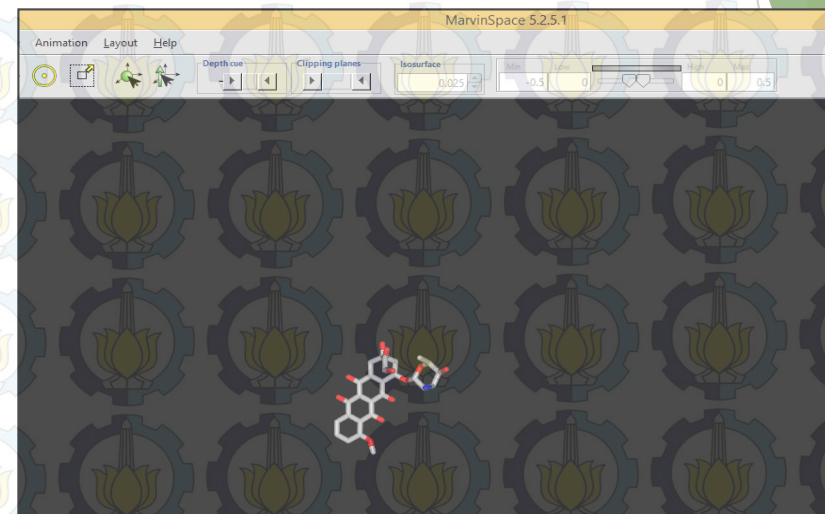


Gambar
4.4B

- Gambar 4.4 A) Visualisasi Hasil *docking* Doxorubicin dan Protein p53 Menggunakan YASARA Tampak depan B) Tampak samping C) Tampak belakang



Gambar 4.4D



Gambar 4.4F

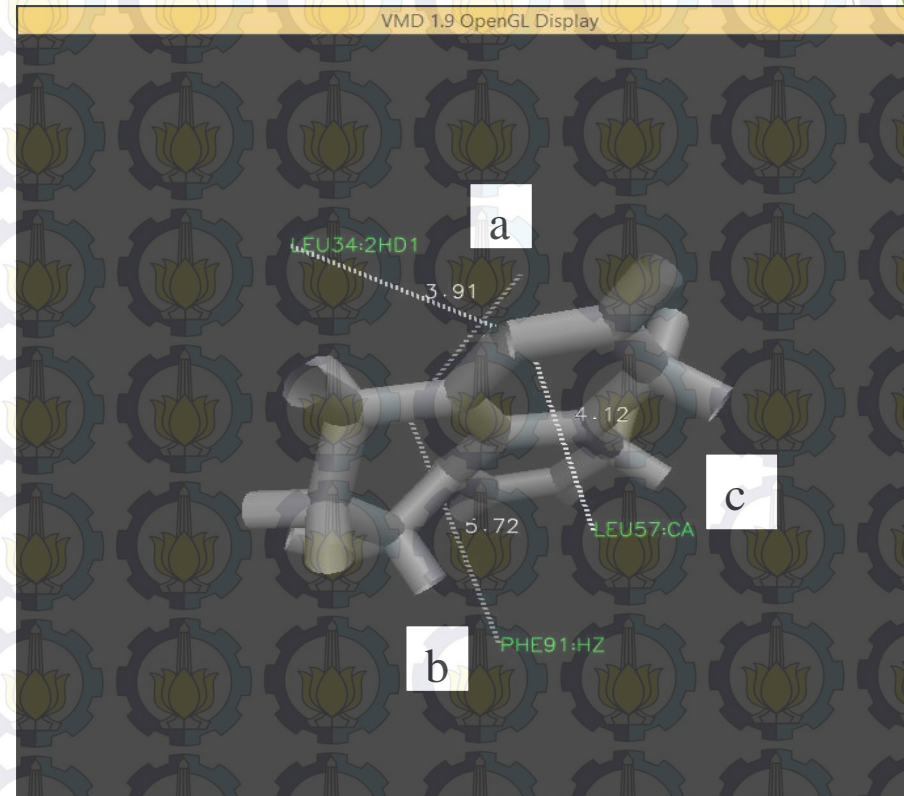


Gambar 4.4E

- ▶ Gambar 4.4D. Hasil Visualisasi Asam Amino Doxorubicin dan Protein p53 Menggunakan YASARA
- ▶ Gambar 4.4E. Visualisasi Hasil *docking* Doxorubicin dan Protein p53 Menggunakan YASARA Jika diperbesar
- ▶ Gambar 4.4F. Visualisasi Struktur Doxorubicin Menggunakan Marvin Space

4.5 Analisa Visualisasi Asam Amino pada p53

- Jenis asam amino yang dekat dengan interaksi antara ligan SA2014 dan protein p53 adalah leusin 34, leusin 57 dan fenilalanin 91. Analisis jarak menggunakan *Visual Molecular Dynamic* (VMD), leusin 34 memiliki jarak paling dekat yaitu 3.91 °A, leusin 57 memiliki jarak 4.12 °A dan Fenilalanin 91 memiliki jarak 5.72 °A



- ▶ Berdasarkan hasil visualisasi menggunakan VMD, jenis asam amino yang dekat dengan interaksi ligan dan protein adalah **fenilalanin dan leusin**.
- ▶ **Fenilalanin** merupakan residu asam amino yang terdapat pada daerah tetramerisasi daerah p53 protein supresor tumor. Residu fenilalanin berada pada *interface* interaksi p53 dan penting untuk **menstabilkan struktur tetramerik melalui ikatan hidrogen** (Nomura, *et al.*, 2011).
- ▶ Sebuah studi *in vitro* di *cell line* melanoma, **leusin** berperan dalam meningkatkan **caspase-3-dimediati apoptosis** (Sheen, *et al.*, 2011). Sinyal leusin berperan terhadap **stimulasi dari mitokondria melalui ekspresi p53 dan oksidasi asam lemak**. Kemampuan leusin untuk menstimulasi biogenesis mitokondria melalui mekanisme aktivasi *mammalian target of rapamycin* (mTOR) (Filhiol, 2012). Leusin berperan dalam tahap inisiasi ribosom yang mengkode mRNA menjadi asam amino untuk protein (Stipanuk, 2007). Leusin mungkin memiliki peran pelindung dan peran *signalling* dalam tumorigenesis (Baracos & Mackenzie, 2006)

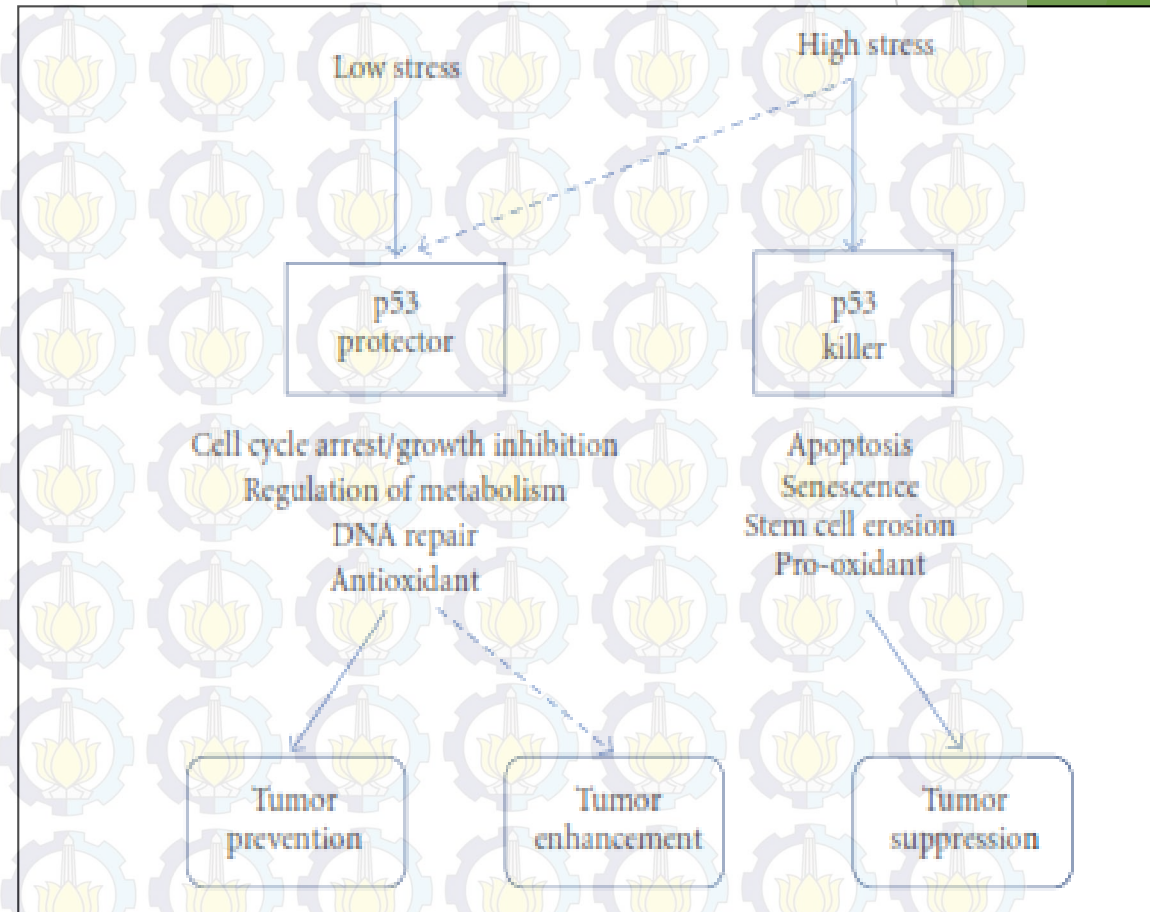
4.6 Respon Protein p53

- ▶ Respon seluler yang ditimbulkan oleh p53 terhadap mutasi atau kerusakan DNA melalui :

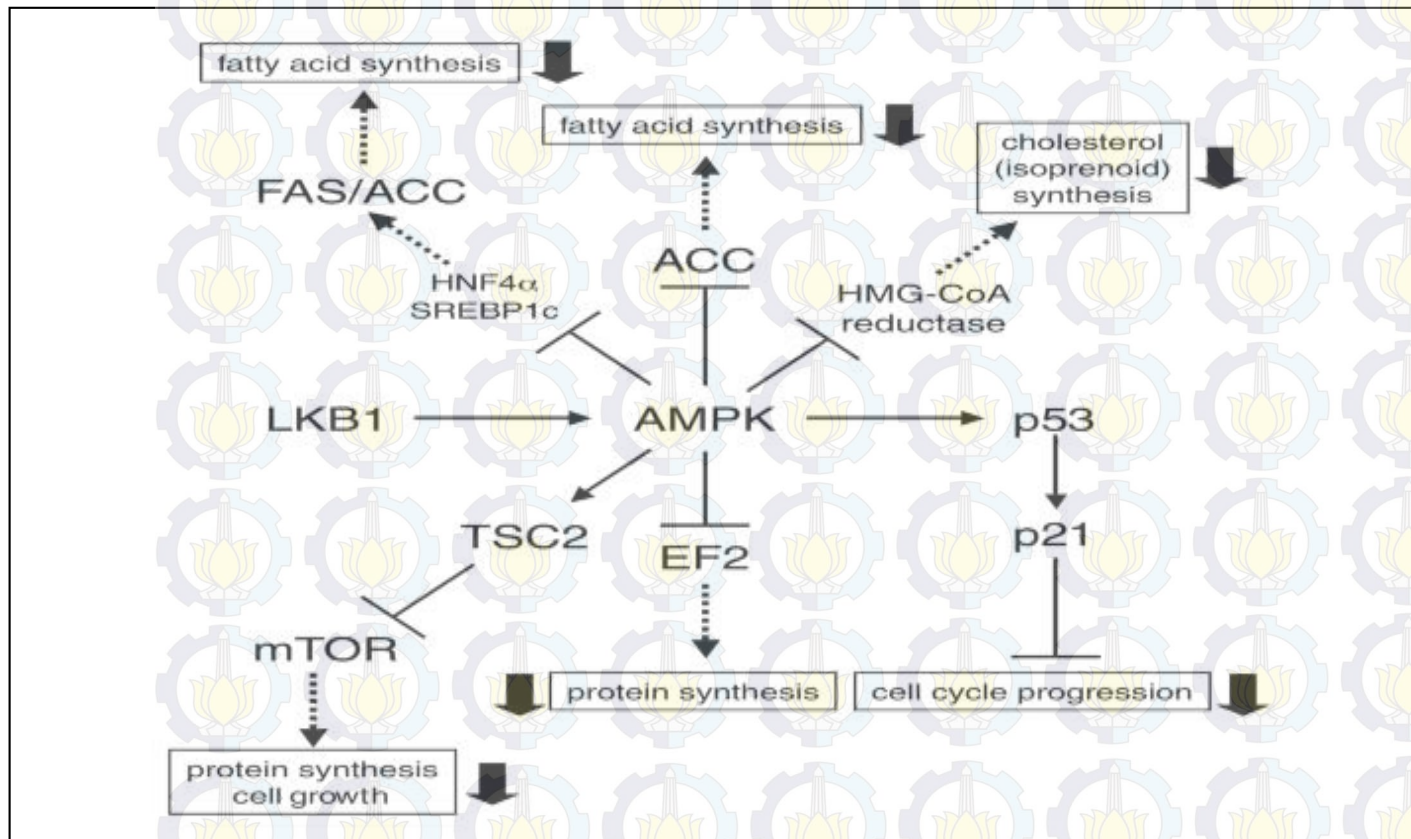
- ▶ 1. Aktivasi p53
- ▶ 2. Induksi terhadap ketahanan siklus sel
- ▶ 3. Perbaikan DNA dan apoptosis

(Reles, 2001; Bai & Zhu, 2006).

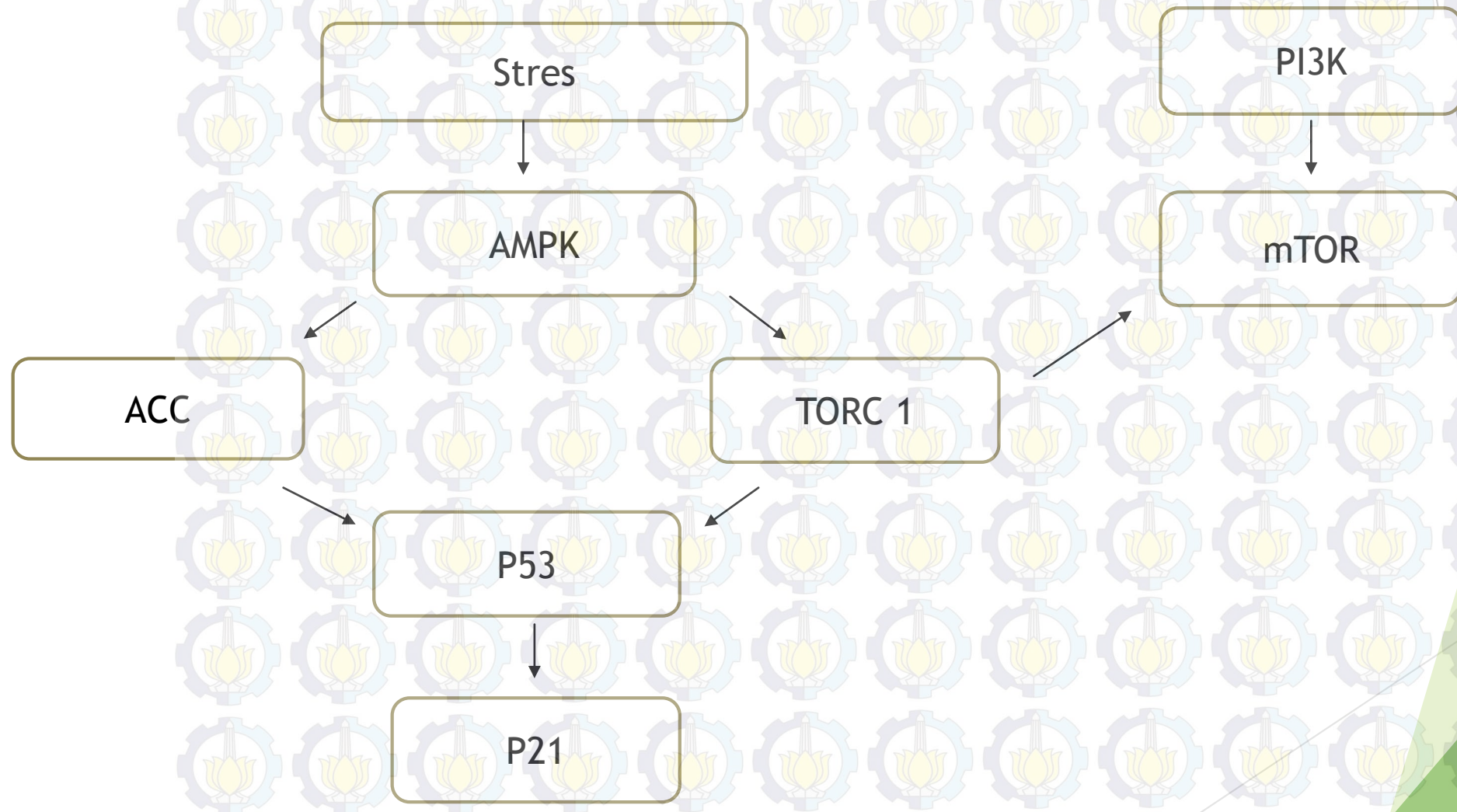
▶ 4.6.1 Aktivasi Protein p53



Jalur yang berperan dalam perkembangan kanker dan berhubungan dengan p53 terdiri atas tiga jalur, yaitu jalur **Protein AMP-kinase teraktivasi (AMPK)**, **Phosphatidilinositol 3 kinase (PI3K)** dan **Mamalian target of rapamycin (mTOR)**.



Hubungan Ketiga Jalur



4.6.2 Induksi Terhadap Ketahanan Siklus Sel

- ▶ Kemampuan protein p53 untuk menghambat pertumbuhan sel sangat penting karena berfungsi sebagai penekan tumor.
- ▶ Inhibisi terhadap siklus sel terjadi apabila timbul blokade di dalam siklus pembelahan sel.
- ▶ Induksi ketahanan siklus sel oleh p53 dapat memberikan tambahan waktu bagi sel untuk memperbaiki kerusakan genom sebelum memasuki tahapan penting sintesis DNA dan mitosis.
- ▶ Sel-sel yang sebelumnya tertahan akan dikembalikan ke kondisi proliferasinya melalui fungsi biokimia p53 yang memfasilitasi perbaikan DNA termasuk diantaranya *nucleotide excision repair* (NER) dan *base excision repair* (Bai & Zhu, 2006).

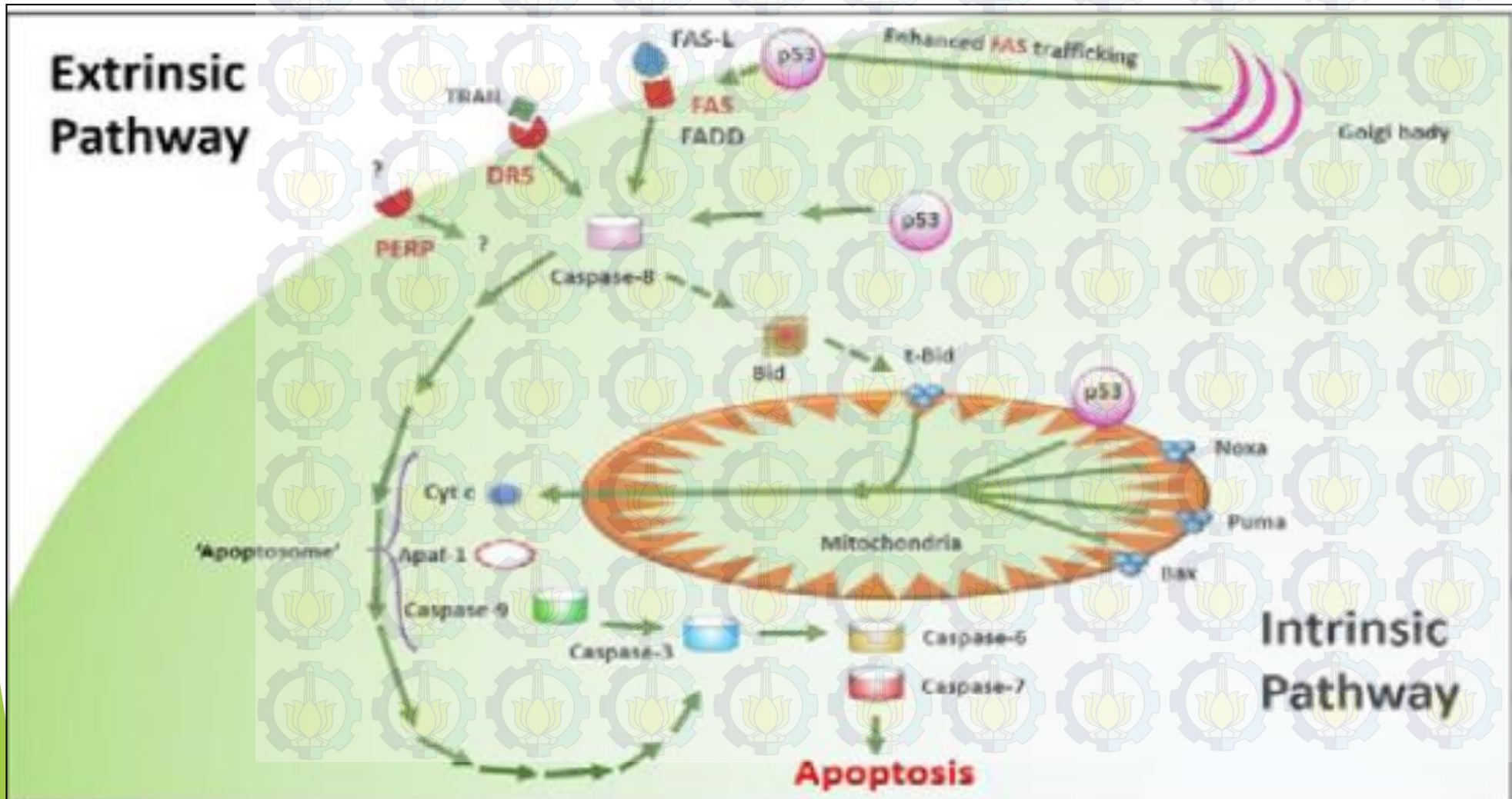
4.6.3 Perbaikan DNA dan Apoptosis

- ▶ Salah satu peranan p53 adalah untuk **memonitor stress selular dan menginduksi apoptosis apabila lesi DNA *irreversible*** atau tidak dapat diperbaiki.
- ▶ Apoptosis merupakan proses bertingkat yang diregulasi dengan ketat, ditandai dengan penyusutan sel, kondensasi kromatin, fragmentasi sel dan inti serta membentuk badan apoptosis.
- ▶ Apoptosis berfungsi untuk menjaga **homeostasis** jaringan, yaitu keseimbangan antara proliferasi dengan kematian sel (Bai & Zhu, 2006; Miettinen, 2009).
- ▶ Apoptosis merupakan barier utama onkogenesis dan protein tumor supressor p53 merupakan kunci utama **regulasi apoptosis dan karsinogenesis** (Maximov, 2008).
- ▶ Apoptosis dimediasi oleh dua jalur apoptosis utama, yaitu **jalur ekstrinsik dan intrinsik**. Apapun jalur aktivasi yang diinduksi, masing-masing jalur tersebut menimbulkan aktivasi protease selektif yang disebut sebagai **caspase**.

Mekanisme apoptosis

- ▶ 1. Signal kematian
Intraseluler dan ekstraseluler
- ▶ 2. Tahap integrasi/ pengaturan
 - ▶ -Regulator, yaitu antiapoptosis (bcl 2 dan bcl-Xl) dan proapoptosis (bax,bad,bak,bid)
 - ▶ - Caspase terdiri atas:
 - ▶ 1) caspase 8,9, dan 10 (inisiator)
 - ▶ 2) caspase 3,6,dan 7 (eksekutor/efektor)
- ▶ 3. Tahap pelaksanaan: intraseluler dan ekstraseluler
- ▶ 4. Fagositosis

Jalur Ekstrinsik dan Intrinsik pada Apoptosis



4.7 Efektivitas SA2014 dan Doxorubicin

- ▶ Alternatif obat yang lebih efektif untuk mengobati kanker payudara adalah **senyawa SA2014** karena memiliki **energi yang lebih stabil** dibandingkan dengan doxorubicin.
- ▶ **Senyawa SA2014** memiliki mekanisme perbaikan kerusakan gen atau protein termutasi melalui **mekanisme kematian sel terprogram (apoptosis) pada p53** dan memiliki efek samping yang rendah sedangkan **doxorubicin** memiliki **mekanisme aksi sitotoksik dan pembentukan radikal bebas yang dapat memicu kardiotoxikitas** pada penggunaan jangka panjang (Bruton, *et al.*, 2005).

Doxorubicin memiliki mekanisme aksi sitotoksik melalui empat mekanisme yaitu:

- ▶ (1) Penghambatan topoisomerase II, yaitu suatu enzim tergantung ATP yang bekerja mengikat DNA dan menyebabkan *double-strand break* pada ujung 3'fosfat sehingga memungkinkan penukaran strand dan pelurusan DNA. Pelurusan strand ini diikuti dengan penyambungan strand DNA oleh topoisomerase II. Topoisomerase ini sangat penting fungsinya dalam replikasi dan perbaikan DNA (Gewirtz, 1999; Minotti et al., 2004).
- ▶ (2) Interkalasi DNA sehingga mengakibatkan penghambatan sintesis DNA dan RNA dan mempengaruhi transkripsi dan replikasi (Gewirtz, 1999; Minotti, et al., 2004).
- ▶ (3) Pengikatan membran sel yang menyebabkan aliran dan transpor ion
- ▶ (4) pembentukan radikal bebas semiquinon dan radikal bebas oksigen melalui proses yang tergantung besi dan proses reduktif yang diperantarai enzim (Bruton, et al., 2005).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

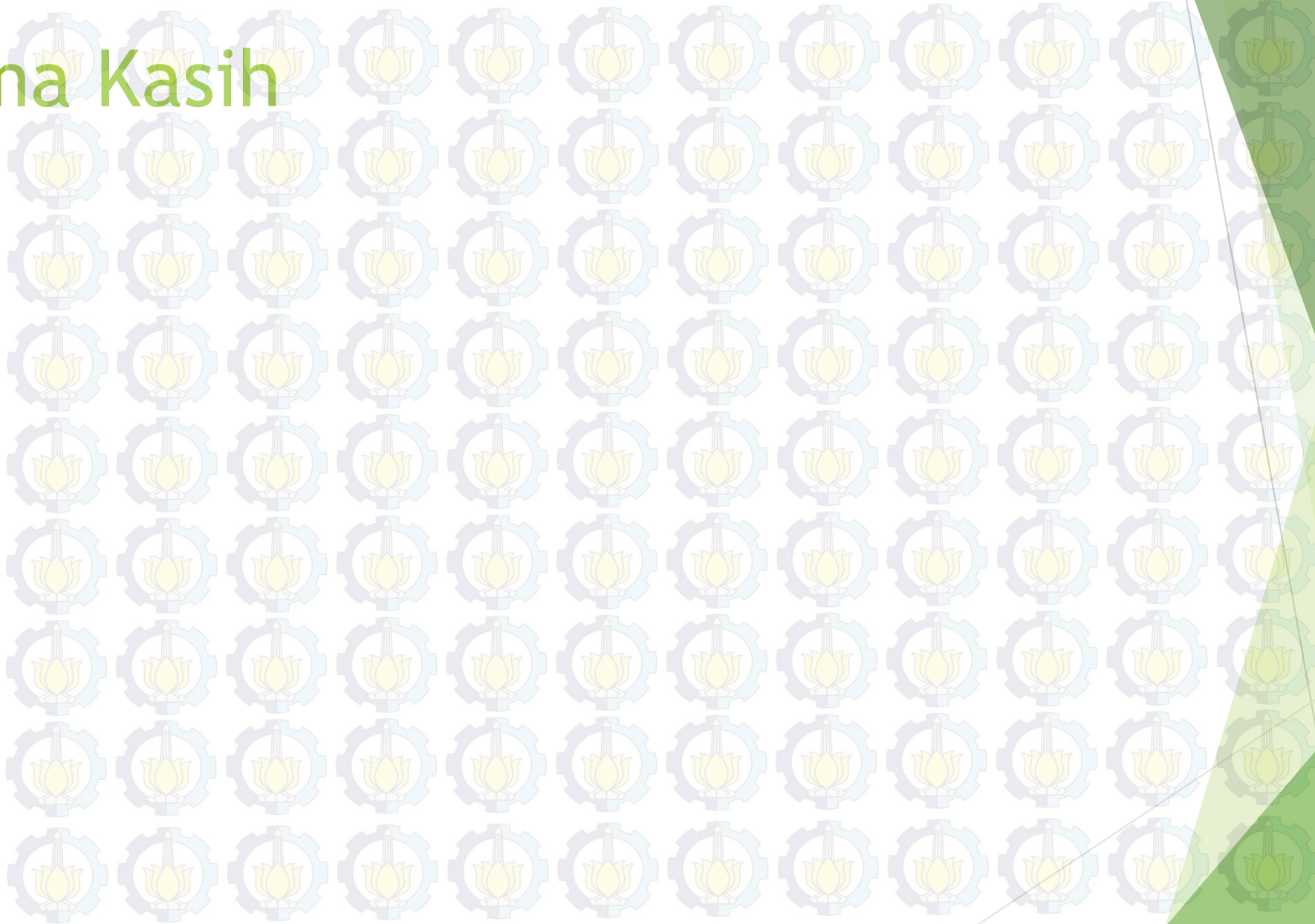
► 5.1 Kesimpulan

Alternatif obat yang lebih efektif untuk mengobati kanker payudara adalah senyawa SA2014 karena memiliki energi yang lebih stabil dibandingkan dengan doxorubicin melalui metode *docking* molekuler

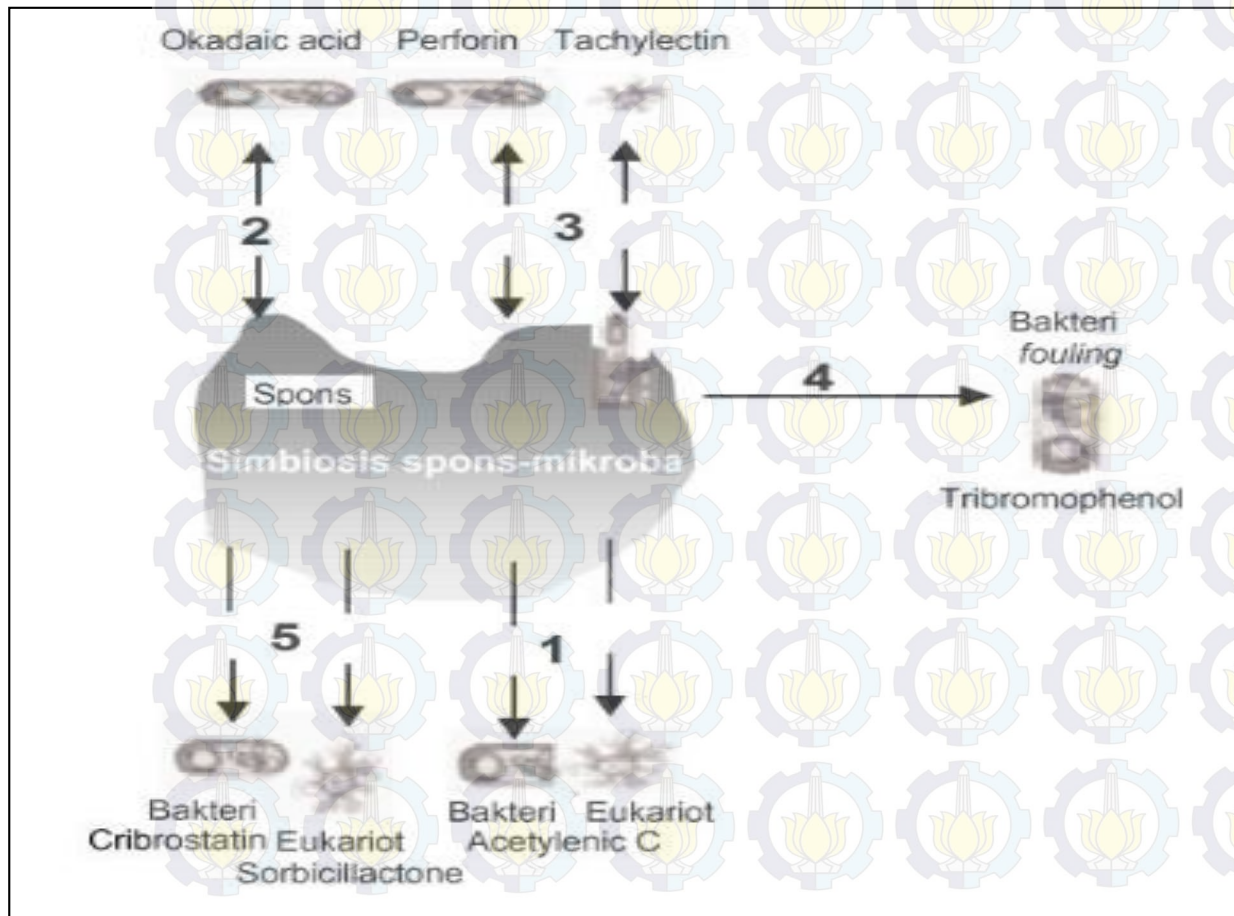
► 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan metode *in vitro* untuk membuktikan efektivitas senyawa SA2014 terhadap kanker payudara T47D.
2. Perlu dilakukan *docking* dengan sampel yang bervariasi dan lebih banyak untuk memvalidasi hasil yang lebih baik.

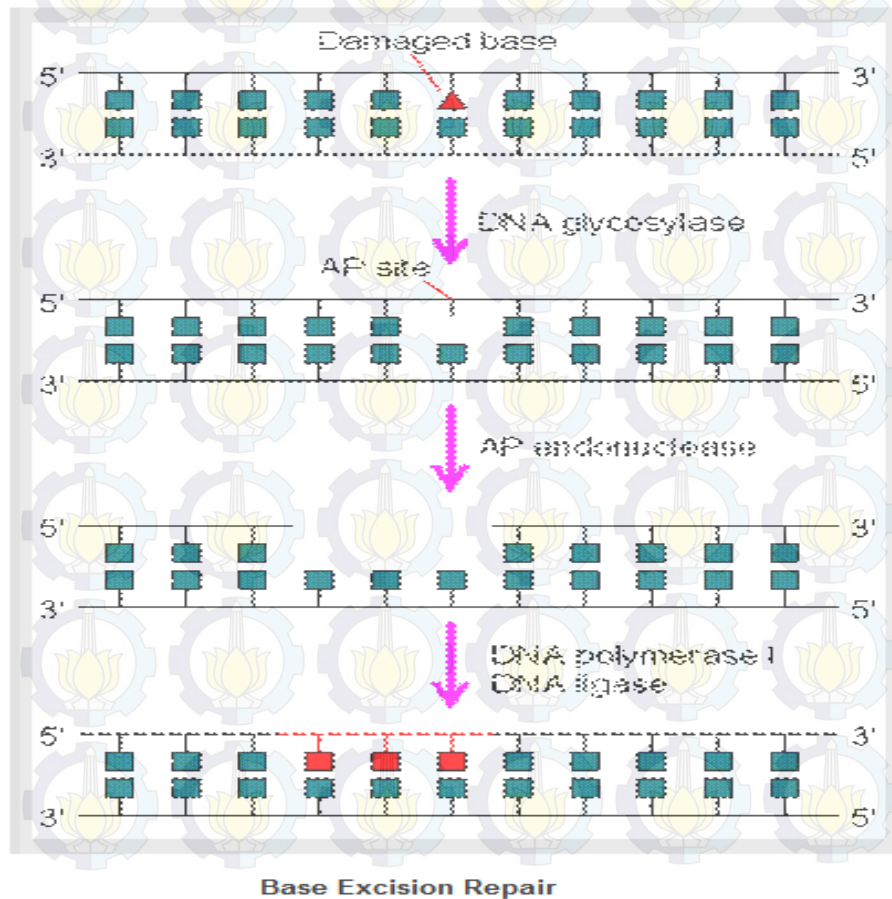
Terima Kasih



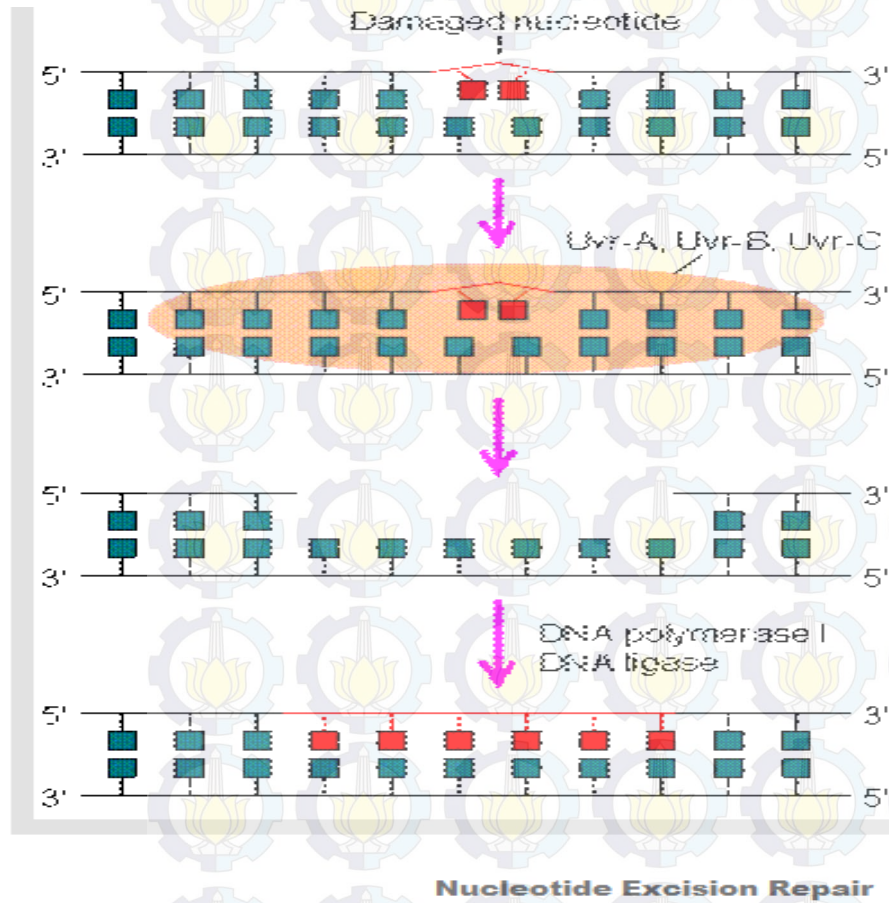
Simbiosis mikroba dan spons



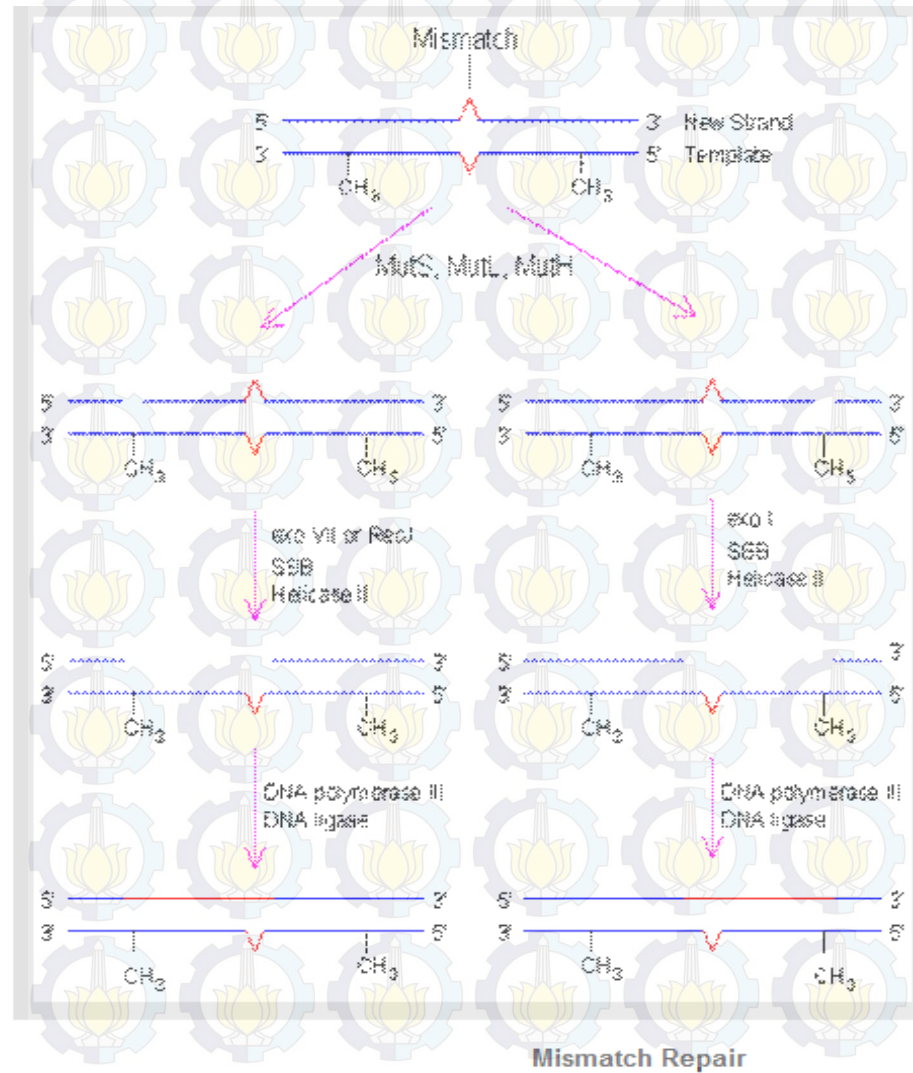
Perbaikan dna base excision repair



Nucleotide excision repair



Mismatch repair



PI3K

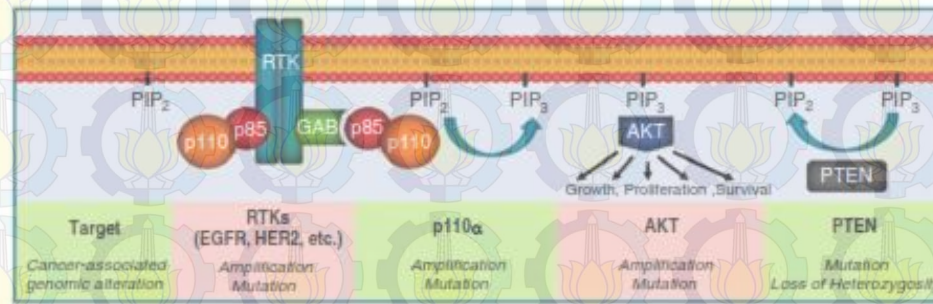


Figure 1 The PI3K signaling axis. Activation of RTKs recruits PI3K directly or through adaptor proteins such as the GAB proteins. PI3K phosphorylates PIP₂ to generate PIP₃, which leads to AKT activation and activation of numerous effectors that regulate critical cellular functions in cancer cells. PTEN negatively regulates this process through dephosphorylation of PIP₃. All major members of this signaling axis are frequently altered in cancer: PI3K, phosphoinositide 3-kinase; RTKs, receptor tyrosine kinases.